



TITLE:

Rax homeoprotein regulates photoreceptor cell maturation and survival in association with Crx in the postnatal mouse retina(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Irie, Shoichi

CITATION:

Irie, Shoichi. Rax homeoprotein regulates photoreceptor cell maturation and survival in association with Crx in the postnatal mouse retina. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-09-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19274>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	入 江 彰 一
論文題目	Rax homeoprotein regulates photoreceptor cell maturation and survival in association with Crx in the postnatal mouse retina (生後のマウス網膜においてRaxホメオ蛋白質はCrxと協同して視細胞の成熟と生存を制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>Rax は網膜前駆細胞に高発現するホメオボックス型転写因子で、脊椎動物の網膜発生に重要な機能を有する。多くの脊椎動物においては、Rax と Rax2 の 2 種類が存在し、Rax が網膜初期発生を制御し Rax2 は視細胞成熟を制御することが報告されてきた。しかしながら、マウスなどの齧歯類では 1 種類の Rax 遺伝子しか存在せず、生後の網膜後期発生における Rax の機能は未知であった。そこで生後マウス網膜において、Rax を時期および視細胞特異的に欠損させることで、マウス網膜視細胞の成熟過程及び生存維持における Rax の機能を解析した。生後のマウス網膜において、Rax は生後 14 日目までの成熟過程の視細胞に発現していた。また in situ ハイブリダイゼーションによって視細胞での Rax の発現は生後 1 ヶ月程度まで続くことを観察した。次に視細胞に発現する Rax を時期及び視細胞特異的に欠損させるために、Rax^{flox/flox} マウスと視細胞特異的プロモーターCrx (cone-rod homeobox)駆動性 CreERT2 トラスジェニックマウスを掛け合わせて、Rax^{flox/flox};Crx-CreERT2 マウスを作製した。生後 4 日目で Rax を欠損させたマウス網膜では、生後 20 日目までに視細胞に発現する複数の遺伝子の発現が減少し、錐体視細胞が脱落することを見出した。さらに生後 2 ヶ月の Rax 欠損マウスにおいて網膜電図(ERG)を測定したところ、網膜生理機能に異常を示した。次に 1 か月齢で Rax を欠損させたマウス網膜では、生後 2 ヶ月において錐体視細胞特異的遺伝子の発現が特異的に減少した。このマウスにおいて ERG を測定したところ、錐体視細胞特異的な生理機能異常が観察された。</p> <p>さらに視細胞の成熟過程において、視細胞特異的遺伝子発現制御を司る転写因子 Crx および転写因子 Nrl (neural retina leucine zipper)と Rax を明らかにするために、視細胞特異的遺伝子のロドプシン、S-オプシン及び M-オプシンのプロモーター領域を用いてルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、これらオプシン遺伝子の発現は Rax の濃度依存的に制御されること、また Rax は Crx と協同して視細胞遺伝子の発現を制御することが示唆された。さらに Rax と Crx が直接相互作用することを免疫沈降法により明らかにした。</p> <p>以上の結果から、転写因子 Rax は視細胞成熟過程において視細胞特異的遺伝子の発現制御と錐体視細胞の生存に必須であり、成体の網膜生理機能にも重要な機能を有していることが明らかになった。また成熟視細胞において、Rax は錐体視細胞特異的な遺伝子発現制御及び生理機能に必須の役割を有していることが明らかになった。またこれらの遺伝子発現制御は、Rax 蛋白質による量依存的な制御を受け、さらに Rax は Crx と協同して視細胞特異的遺伝子の発現制御を行うことが示唆された。</p>			

（論文審査の結果の要旨）
<p>ホメオボックス型転写因子 RAX は、網膜前駆細胞に高発現し、脊椎動物の網膜発生に重要な機能を有する。多くの脊椎動物では RAX と RAX2 の 2 種類が存在し、RAX が網膜初期発生を制御し、RAX2 は視細胞成熟を制御する。しかしマウスを含む齧歯類では 1 種類の <i>Rax</i> 遺伝子しか存在せず、生後の網膜後期発生における RAX の機能は未知であった。そこで生後のマウス網膜視細胞の成熟過程及び生存維持における RAX の機能を調べた。生後のマウス網膜視細胞における <i>Rax</i> の発現は生後 1 ヶ月程度まで続いた。次に <i>Rax^{flox/flox};Crx-CreERT2</i> マウスを作製し、<i>Rax</i> を時期及び視細胞特異的に欠損させたところ、生後 20 日目までに視細胞遺伝子の発現が減少し、錐体視細胞が脱落した。1 ヶ月齢で <i>Rax</i> を欠損させたマウス網膜では、2 ヶ月齢において錐体視細胞特異的遺伝子の発現が特異的に減少し、錐体視細胞特異的な網膜電図の異常を示した。次に視細胞特異的遺伝子のプロモーター領域を用いたルシフェラーゼアッセイ及び RAX と転写因子 CRX 間の免疫沈降を行い、RAX は CRX と相互作用して視細胞遺伝子の発現を量依存的に制御することを明らかにした。以上の結果より、転写因子 RAX は視細胞成熟過程において視細胞遺伝子の発現制御と錐体視細胞の生存に必須であり、成体の網膜生理機能にも重要であることが明らかになった。以上の研究は、網膜視細胞の成熟と生存の分子メカニズムの解明に貢献し、網膜変性機構の理解や網膜再生医療の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 7 年 9 月 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日以降